

抗核抗体的研究进展

李炎梅(综述), 谭毅(审校)

基金项目: 广西贺州市科学研究与技术开发计划项目课题(编号: 贺科转 120904)

作者单位: 543001 广西, 桂东人民医院检验科

作者简介: 李炎梅(1970-), 女, 大学本科, 医学学士, 副主任技师, 研究方向: 免疫学、生物化学等临床医学检验。E-mail: liou601@163.com

[摘要] 自身抗体是指抗自身细胞内、细胞表面和细胞外抗原的免疫球蛋白, 是自身免疫和自身免疫性疾病重要特征之一。抗核抗体是指抗细胞内所有抗原成分的自身抗体的总称, 某些自身免疫性疾病伴有特征性的自身抗体谱, 而疾病标记性抗体或特异性抗体可诊断和鉴别诊断疾病特性。自身抗体可判断疾病的活动性及预后, 观察治疗反应, 指导临床治疗。进一步的抗核抗体谱研究, 可阐明抗核抗体与自身免疫性疾病的相关性。该文对抗核抗体谱及其靶抗原与疾病的相关性进行了综述。

[关键词] 自身抗体; 自身免疫性疾病; 抗核抗体谱; 抗核抗体荧光模型; 抗核抗体滴度

[中图分类号] R 446.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2013)08-0814-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.08.32

New progress study of antinuclear antibodies LI Yan-mei, TAN Yi. Department of Clinical Laboratory, Guidong People's Hospital, Guangxi 543001, China

[Abstract] Autoantibodies refer to the resistance of immune globulins to their own intracellular antigens, the cell surface antigen and the extracellular antigen; They are one of the key characteristics for autoimmune and autoimmune diseases. Antinuclear antibodies are the total autoantibodies of intracellular antigenic components. Some autoimmune diseases contain characteristic autoantibodies. The marked autoantibodies or special autoantibodies can be used for diagnosis and differential diagnosis of the disease characters. Autoantibodies can be estimated for activity and prognosis of diseases, responded to therapies, and guided for clinic treatment as well. Further antinuclear antibody spectrum research can clarify the relationship between the antinuclear antibodies and autoimmune diseases. Thus, this paper clarifies the relationship between antinuclear antibody, auto antigen and diseases.

[Key words] Autoantibody; Autoimmune disease; Antinuclear antibody spectrum; Antinuclear antibody fluorescence model; Antinuclear antibody titer

抗核抗体(ANA)是指抗细胞内所有抗原成分的自身抗体的总称, 自身抗体可判断疾病的活动性及预后, 观察治疗反应, 指导临床治疗。间接免疫荧光法(IIF)检测ANA可检测到完整的抗原谱, 但ANA荧光核型已不能准确反映以往已知的靶抗原所呈现的经典荧光核型, 进一步的抗核抗体谱(ANAs)研究, 可阐明ANA与自身免疫性疾病相关性, 因此, 本文对ANAs及其靶抗原以及与疾病的相关性进行阐述。

1 ANA的新概念

ANA识别的各种细胞核组分^[1], 可特征性地出现于许多疾病中, 尤其是风湿性疾病^[2]。ANA传统定义是指抗细胞核抗原成分的自身抗体的总称, 现

代定义是指抗细胞内所有抗原成分的自身抗体的总称^[3], 对ANA靶抗原的理解已从传统的细胞核扩大到整个细胞, 包括细胞核、细胞浆、细胞骨架、细胞分裂周期等。因此ANA鉴别诊断在对个别风湿疾病的确认十分必要, 而且对自身免疫性疾病的进一步诊断也很有价值^[4]。根据细胞内靶抗原分子理化特性和分布部位可将ANAs分类: 抗DNA抗体, 包括抗单链DNA抗体(ssDNA)和抗双链DNA抗体(dsDNA); 抗组蛋白抗体, 组蛋白是染色质的基本结构核小体的重要组成部分; 抗非组蛋白抗体, 包括抗ENA抗体和抗着丝点抗体; 抗核仁抗体; 抗其他细胞成分抗体, 有高尔基体、中心体、纺锤体、线粒体、溶酶体、肌动蛋白、Vimentin、细胞角蛋白等抗体。

2 ANAs 的检测方法

ANAs 检测方法有多种,主要有 IIF、酶联免疫吸附法(ELISA)、放射免疫法(RIA)、对流免疫电泳法(CIE)、免疫双扩散法(ID)、免疫印迹法等。针对可溶性成分(如 ENA、DNA)可采用 ID、CIE、ELISA、RIA 法测定,针对不溶性成分可采用 IIF 法,而 IIF 法可检测到完整的 ANAs 抗原谱,可预测分析 ANA 靶抗原范围,被认为是 ANA 检测“金标准”^[5],也被现在 90% 以上实验室采用。不同检测技术的敏感性和特异性存在差别,如检测抗 dsDNA 抗体的方法学,敏感性:ELISA、RIA > IIF;特异性:IIF > ELISA、RIA。目前较为常规的模式是以 IIF 为筛选实验,再用免疫印迹法和 ELISA 等技术进行二级确认实验^[6]。不同实验室之间对同一项目采用不同的检测方法必定会导致检测结果的差异,因此,两种或多种不同方法学原理的实验互相佐证,有助于减少实验误差^[7]。如用 ELISA 检测抗核小体抗体,基于不含 H1、Scl-70 和其他非组蛋白的核小体制剂,可排除硬皮病患者血清的假阳性反应。因此检验方法的合理选择和多次重复检测再密切结合临床进行分析才能正确诊断疾病。

3 IIF 法检测 ANA 常见荧光模型及对应靶抗原

核均质型,已知靶抗原有 dsDNA、ssDNA、核小体和组蛋白。核粗颗粒型,已知靶抗原有 nRNP 和 Sm。核细颗粒型,已知靶抗原有 SS-A 和 SS-B。核仁型,已知靶抗原有原纤维蛋白、RNA 多聚酶 I、PM-Scl 和 Scl-70。核少点型,已知靶抗原有抗 p80 抗体。核多点型,已知靶抗原有抗 Sp100 抗体。核膜型,已知靶抗原有抗板层素/gp210 抗体。着丝点型,已知靶抗原有着丝点蛋白 B。细胞浆颗粒型,已知靶抗原有抗线粒体抗体(AMA)、抗核糖体 P 蛋白抗体、抗 Jo-1 抗体、抗高尔基体抗体、抗溶酶体抗体。细胞浆纤维型,已知靶抗原有抗肌动蛋白抗体、抗波形蛋白抗体、抗原肌球蛋白抗体。

4 ANAs 与疾病的相关性

4.1 抗 nRNP(nuclear RNP)抗体 以抗核内的核糖蛋白而得名。临床上应用较多的是 u1RNP 抗体。u1RNP 由 u1RNA 和 9 种不同的蛋白质组成。抗 u1RNP 抗体在混合性结缔组织病中几乎均为阳性,且滴度很高;在其他结缔组织病中阳性率低且滴度低;它是区分结缔组织病和非结缔组织病的有力指标,高滴度的抗 u1RNP 抗体是混合性结缔组织病的标志。有文献^[8]报道,抗 nRNP 抗体阳性的系统性红斑狼疮(SLE)患者如同时存在 dsDNA 和抗 Sm 抗

体,则发生狼疮性肾炎的可能性较大,病情较重,预后也较差。

4.2 抗 Sm 抗体 以病人名字(Smith)命名。已知 Sm 是核内小核糖体蛋白(SuRNP),含有除 u3RNA 外的所有 u 族 RNA。抗 Sm 抗体的蛋白多肽较高特异性的为 B 和 D 带。抗 Sm 抗体是诊断 SLE 的特异性抗体,与抗 dsDNA 抗体一起是 SLE 的诊断指标,但其阳性率在 SLE 中为 30% 左右,但抗 Sm 抗体对早期、不典型的 SLE 或经治疗缓解后 SLE 回顾性诊断有很大帮助。Sm 和 nRNP 是同一分子复合物(RNA-蛋白颗粒)中的不同抗原位点,其中的 RNA 富含尿嘧啶核苷(u1、u2、u4-u6),Sm 含有除 u3 外的 u1、u2、u4-u6,而 U1-nRNP 仅含有 U1-nRNA。所以,从理论上讲,测得抗 Sm 抗体的同时也应测得抗 U1-nRNP;而测得抗 U1-nRNP 抗体则抗 Sm 抗体亦可为阴性,即抗 Sm 抗体阳性均伴有抗 U1-nRNP 抗体,而抗 U1-nRNP 抗体可以单独存在。在检测中若抗 U1-nRNP 抗体和抗 Sm 抗体同时阳性,可只报抗 Sm 抗体阳性结果。

4.3 抗 SSA/RO 抗体 由于该抗体与干燥综合征相关,故取名 SSA。SSA 与 RO 的抗原性、生化特点等一致,是含有 Y-YRNA 的蛋白质,更多存在于胞浆内。抗 SSA 抗体与各类自身免疫性疾病相关,最常见于干燥综合征,也见于 SLE 和原发性胆汁性肝硬化,偶见于慢性活动性肝炎;而在新生儿 SLE 中抗 SSA 抗体阳性率为 100%。该抗体还可经胎盘传给胎儿引起炎症反应和新生儿先天性心脏传导阻滞。国内有报道 5 例新生儿红斑狼疮患者^[9],ANA 检测结果为阳性,核型荧光染色模式为颗粒型,抗体滴度均 $\geq 1\ 000$,经 ENA 抗体确认,结果抗 SSA 和抗 SSB 抗体阳性。

4.4 抗 SSB 抗体 抗 SSB 抗体是 RNA 多聚酶转录中的小 RNA 磷酸蛋白质,也是一种与干燥综合征相关的抗体,几乎仅见于干燥综合征和 SLE 的女性患者中,而在干燥综合征中抗 SSA 抗体和抗 SSB 抗体常同时出现。抗 SSA 和抗 SSB 又被认为是干燥综合征的标志性抗体^[10]。

4.5 抗 Scl-70 抗体 因该抗体主要在硬化症(Scleroderma,SD)中出现,且其抗原分子量为 70 KD 而得名。常见于进行性系统性硬化症(弥漫型)患者中;常把抗 Scl-70 抗体视为 SD 的标记抗体。文献报道^[11],系统性硬化症检出抗 Scl-70 抗体的阳性率为 50.00%,特异性为 97.53%。

4.6 抗 PM-Scl 抗体 按疾病多发性肌炎(PM)而

命名。主要在 PM 和 SD 重叠的病人中,其抗原为分子量 110 ~ 120 KD 不等的多种蛋白。

4.7 抗 Jo-1 抗体 Jo-1 抗原是分子量为 50 KD 的组氨酰 tRNA 合成酶,常与合并肺间质纤维化相关。该抗体常被视为 PM/DM 的标记抗体,在合并肺间质病变的 PM/DM 病人中,抗 Jo-1 抗体高达 60%。PM 和皮肌炎(DM)检出抗 Jo-1 抗体最为常见^[12]。

4.8 抗着丝点抗体 抗着丝点抗体与局限型进行性系统性硬化症有关,对局限型进行性系统性硬化症有很高的特异性和敏感性。

4.9 抗增殖性细胞核抗原(PCNA)抗体 PCNA 是分子量为 35 KD 的 DNA 聚合酶的一种辅助蛋白,它可能在控制细胞周期中起关键作用。抗 PCNA 抗体是 SLE 的特异性抗体。

4.10 抗 Ku 抗体 以日本病人的名字命名。抗 Ku 抗体的靶抗原为 66 及 86 KD 的两种核蛋白,它们以二聚体存在且结合于 dsDNA 的自由端,常见于 SLE 和重叠综合征。

4.11 抗 DNA 抗体 可分为单链(变性)和双链(天然)DNA 抗体。抗 ssDNA 抗体在多种疾病及正常人血清中存在,因此无特异性,临床价值不大。抗 dsDNA 抗体对诊断 SLE 有较高的特异性,在活动期 SLE 病人血清中有高滴度的抗 dsDNA 抗体,随着疾病活动的控制,抗 dsDNA 抗体滴度可以下降或消失。除 Sm 抗体外,抗 dsDNA 抗体也可作为诊断 SLE 的血清学标志,还可判断 SLE 的活动性及疗效监测。抗 dsDNA 滴度与疾病的活动度相关,是 SLE 的活动性标志^[13]。较高的抗 dsDNA 抗体阳性率与本研究中的病例多为活动期 SLE 有关^[14]。

4.12 抗核小体抗体 核小体是细胞染色体的功能亚单位,由 DNA 和组蛋白以特殊的方式组成。在 SLE 的早期抗核小体抗体比抗 dsDNA 抗体、抗组蛋白抗体更早出现,对 SLE 的诱因和致病有重要作用。

4.13 抗组蛋白抗体 抗组蛋白抗体是抗一种或几种组蛋白或 H2A-H2B 复合物抗体。在药物诱导的红斑狼疮中多见,也可在多种自身免疫性结缔组织病中出现。

4.14 抗核糖体 P 蛋白抗体 抗核糖体 P 蛋白抗体为 SLE 的高特异性指标。普遍认为抗核糖体 P 蛋白抗体的滴度与 SLE 的活动性相关,还与 SLE 的中枢神经系统症状、肾脏或肝脏受累相关。

4.15 抗 M2 抗体 M2 靶抗原的主要成分为丙酮酸脱氢酶复合物(PDC)E2 组分,高滴度的抗 M2 抗

体是原发性胆汁性肝硬化(PBC)的标志,对 PBC 的诊断及鉴别诊断有很高的特异性。AMA2 被认为是诊断 PBC 的重要指标^[15]。

5 ANA 荧光模型、滴度及特异性抗体与疾病的相关性

ANA 可见于多种疾病,特别是结缔组织病,高滴度 ANA 则高度提示自身免疫病。ANA 在 SLE 的诊断中有重要意义,SLE 患者 ANA 滴度在 1:320 以上的占 98%,并且活动期患者滴度较高,在 1:1 000 以上的占 92%,非活动期患者滴度偏低以 1:320 居多;其他非 SLE 患者如肾病、类风湿性关节炎(RA)的人体内也存在 ANA,但其滴度更低,以 1:100 为常见^[16]。IIF 检测 ANA 时,有很多荧光模型对应的靶抗原尚不清楚,这些荧光模型的临床意义也不明确,但随着人们对自身免疫性疾病及其自身抗体研究的深入,越来越多的抗体被研究被发现,成为研究的焦点。如抗着丝点抗体对局限型进行性系统性硬化症有很高的特异性和敏感性,但文献报道^[17],抗着丝点抗体不仅在经典的硬皮病中表达,还可出现在多种自身免疫性疾病中,具有较宽的疾病谱。IIF 检测 ANA 可通过对荧光模型的分析,初步判断相应抗体的性质,但有时同种抗体可出现不同的荧光染色模型,不同的抗体也可出现同样的荧光染色模型,虽然荧光模型具有一定的提示作用,但仅根据模型来推断抗体是片面的。目前认为 ANA 荧光模型已不能准确反映以往已知的靶抗原所呈现的经典荧光模型,应同时进行 IIF-ANA 筛查和各种特异性自身抗体检测。如果单用任何一种方法检测都有可能造成 ANA 阳性结果的漏检、漏报或自身免疫性疾病的漏诊^[18]。核点型、核膜型及分裂期细胞如中间体、中心粒、纺锤体等 IIFA-ANA 核型,由于 LIA-ANAs 15 项中不包括特异性抗体,当 IIFA-ANA 滴度达到 1:320 时,有必要为患者做 LIA-ANAs;但对于高度怀疑自身免疫性疾病的患者,无论 IIFA-ANA 结果如何均应做 LIA-ANAs 特异性抗体检测,以免造成漏诊^[19]。自身抗体的存在是 AID 诊断、治疗及预后不可缺少的生物学证据^[20]。我们通过研究也发现,虽然 IIF 检测 ANA 在其他疾病人群有一定阳性率,但阳性率不高,且滴度也不高;而在自身免疫性疾病患者中,其阳性率和滴度均很高;单凭 IIF 检测 ANA 或只做特异性抗体谱均可引起漏检,如抗 DNA 抗体、抗组蛋白抗体和抗核小体抗体在 Hep-2 细胞核上呈现的荧光模型都是均质型,但三者与疾病的相关性不一致,所以应同时进行 ANA (IIF) 和特异性

抗体谱的检测,为临床提供更多的诊断和鉴别诊断疾病特性的依据。

6 结语

IIF检测ANA可检测到完整的抗原谱,同时进行ANA(IIF)和特异性抗体谱的检测,可互补方法学的不足,提高诊断的准确率;而随着方法学的不断改进以及新的靶抗原和疾病的特异性、非特异性自身抗体的研究,更多的自身抗体应用到临床工作中,对临床诊断、治疗及预后有很大的指导作用。

参考文献

- Lopate G, Pestronk A, Al-Lozi M, et al. Peripheral neuropathy in an outpatient cohort of patients with Sjogren's syndrome [J]. Muscle Nerve, 2006, 33(5): 672-676.
- Hartung K, Seelig HP. Laboratory diagnostics of systemic autoimmune diseases. Part 1. Collagenoses. [Article in German] [J]. Z Rheumatol, 2006, 65(8): 709-724.
- 李永哲. 抗核抗体(ANA)临床意义及检测方法[J]. 中国检验医学与临床, 2000, 1(4): 183-184.
- Euroimmun AG, Stocker W, Schlumberger W. Alle Beitrage zum Thema Autoimmundiagnostik. in: Gressner A, Amdt T (Hrsg) Springer Lexikon Klinische Chemie. Medizinische Labordiagnostik von A-Z [M]. Springer Medizin Verlag, Heidelberg, 2007: 68-83.
- Peterson LK, Wells D, Shaw L, et al. Novel method for quantitative ANA measurement using near-infrared imaging [J]. J Immunol Methods, 2009, 349(1-2): 1-8.
- 汤春园, 陶瑕, 李山. 抗核抗体、抗双链DNA抗体研究与实验室检测的进展[J]. 内科, 2008, 3(3): 421-423.
- 秦雪, 陶瑕, 陈志坚, 等. 间接免疫荧光法与ELISA检测抗核抗体、抗双链DNA抗体的比对分析[J]. 南方医科大学学报, 2009, 29(3): 472-475.
- 孙灵芬, 张瑾. SLE患者血清学检测的临床诊断价值[J]. 中国热带医学, 2007, 7(4): 582-583.
- 唐吟岫, 杨苏. ANA联合抗ENA抗体谱检出5例新生儿红斑狼疮[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(7): 559.
- 李苏亮, 叶芸. 多种自身抗体联合检测对自身免疫性疾病临床诊断的意义[J]. 实用医药杂志, 2008, 25(5): 539-541.
- 陆俊忠, 付启云, 张迎梅, 等. 抗核抗体、抗ENA抗体谱联合检测对诊断弥漫性结缔组织病的意义[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 238-239.
- 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 11.
- 张晓梅, 罗兴燕, 连金泉. ANA、抗dsDNA、抗ENA抗体联合检测对系统性红斑狼疮患者的诊断及临床意义[J]. 南昌大学学报, 2010, 50(1): 60-62.
- 李炎梅. 抗核抗体谱和抗ds-DNA抗体检测与SLE疾病的相关分析[J]. 华夏医学, 2009, 22(6): 1067-1069.
- 张铭明, 张锐. 原发性胆汁性肝硬化患者抗核抗体特殊荧光模型分析及诊断价值[J]. 临床检验杂志, 2010, 28(2): 122-123.
- 马荣, 石宏宴, 董枫, 等. ANA滴度、抗ds-DNA滴度检测与自身免疫性疾病相关性及其临床应用价值探讨[J]. 大连医科大学学报, 2006, 28(6): 492-493.
- 王晓东, 董潇阳, 刘旭, 等. 新疆地区564例抗核抗体阳性结缔组织病患者的荧光核型及靶抗原分析[J]. 临床检验杂志, 2011, 29(5): 386-387.
- 董晓微, 胡朝军, 张道强, 等. 抗核抗体与特异性自身抗体检测结果不一致的临床意义分析[J]. 检验医学, 2011, 26(9): 606-609.
- 吴丽娜, 郭萍, 丁宁. 抗核抗体荧光核型与特异性抗体相关性分析[J]. 免疫学杂志, 2010, 26(11): 973-976.
- 李晔, 李永哲. 原发性胆汁性肝硬化自身抗体谱研究新进展[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(5): 945-948.

[收稿日期 2013-03-01][本文编辑 谭毅 黄晓红]

《中国临床新医学》杂志征集广告启事

《中国临床新医学》杂志是经中华人民共和国新闻出版总署批准出版、由中华人民共和国卫生部主管、由中国医师协会和广西壮族自治区人民医院共同主办的国家级医学学术性科技期刊(国内统一连续出版物号为CN45—1365/R, 国际标准刊号为ISSN1674—3806, 邮发代号为48—173, 月刊, 国内外公开发行)。办刊宗旨为:报道国内外医学科学的最新研究成果,传播医学科学的最新理论和信息,交流医学科学的最新经验,介绍医学科学的最新技术。主要读者对象为广大的医疗卫生业务技术人员和医院管理工作。

本刊征集承接各种、各类宣传广告,包括医疗机构介绍,医药卫生产品、药品、医疗器械、医疗耗材、保健食(药)品及保健酒(茶)类等。热情欢迎广大医疗机构、厂家、商家、销售代表和代理商来人、来电、来函联系商谈广告业务;欢迎有关公司(个人)承包代理广告业务;欢迎广大医务人员协助推介联系广告业务。本刊将按照广告费用情况,实行多种、多方式的优惠、提成、酬劳、佣金、奖励等制度。

本刊地址:广西南宁市桃源路6号广西壮族自治区人民医院内,邮编:530021,联系电话:0771-2186013, E-mail: zgl-cxyzz@163.com。

广告刊登需刊登广告方提供以下相关材料:医疗机构需要提供加盖单位公章的营业执照复印件、广告审批文件复印件;医药卫生产品、药品、医疗器械、医疗耗材、保健食(药)品、保健酒(茶)类等,需提供加盖公司公章的“广告委托书、生产许可证、产品合格证、销售许可证、广告审批文件”等相关证明材料的复印件。

· 本刊编辑部 ·